

# 莲心碱的固体分散体与包合物的体外溶出度及大鼠药动学研究<sup>Δ</sup>

唐婷\*, 周江, 廖琼, 吴婷婷, 桂卉<sup>#</sup>(湖南中医药大学药学院, 长沙 410208)

中图分类号 R94;R283.6 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)16-2260-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.16.32

**摘要** 目的:比较莲心碱的固体分散体与包合物的体外溶出度及其在大鼠体内的生物利用度。方法:分别制备莲心碱PVP(聚乙烯吡咯烷酮)-K30固体分散体和莲心碱羟丙基-β-环糊精(HP-β-CD)包合物,按《中国药典》浆法考察莲心碱原料药、固体分散体与包合物在0、10、20、30、40、50 min的体外溶出度。取12只SD大鼠随机均分为3组,分别ig给予莲心碱固体分散体、包合物、原料药混悬液(莲心碱的给药量均为8 mg/只);采用高效液相色谱法测定给药前与给药后5 min和0.25、0.5、1、1.5、2、3、4、6、8、10、24 h的血药浓度,用DAS 2.0软件计算药动学参数。对3种莲心碱样品的累积溶出度及药动学参数进行比较。结果:在45 min时莲心碱固体分散体、包合物与原料药的累积溶出度分别为88.02%、73.06%、18.60%。莲心碱固体分散体、包合物与原料药在大鼠体内的药动学参数分别为 $t_{1/2\alpha}$ (0.230±0.060)、(0.293±0.091)、(0.365±0.092) h,  $c_{\max}$ (28.750±0.832)、(26.330±0.582)、(22.772±1.691) μg/ml,  $t_{\max}$ (0.433±0.067)、(0.590±0.108)、(1.361±0.133) h,  $AUC_{0-24 h}$ (606.701±34.512)、(489.800±29.181)、(343.900±16.311) μg·ml/h。三者给药后药动学特征均符合二室模型;固体分散体的 $c_{\max}$ 和 $AUC_{0-24 h}$ 均高于包合物( $P<0.05$ )。结论:与原料药比较,将莲心碱制成固体分散体与包合物后均能提高其累积溶出度和大鼠体内的生物利用度;且固体分散体在大鼠体内的吸收速度更快,优于包合物。

**关键词** 莲心碱;固体分散体;包合物;体外溶出度;血药浓度;药动学

## Study on the Solubility *in vitro* of Liensinine Solid Dispersion and Liensinine Inclusion Compound and Rats Pharmacokinetics

TANG Ting, ZHOU Jiang, LIAO Qiong, WU Ting-ting, GUI Hui (School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To compare the solubility *in vitro* of liensinine solid dispersion and inclusion compound and the rats' bioavailability *in vivo*. METHODS: Liensinine PVP-K30 solid dispersion and liensinine hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HP-β-CD) inclusion compound were respectively prepared. Chinese Pharmacopoeia slurry method was used to detect the solubility *in vitro* of liensinine APIs, solid dispersion and inclusion compound at the time point of 0, 10, 20, 30, 40 and 50 min. 12 SD rats were randomly divided into 3 groups, which were respectively given liensinine solid dispersion, inclusion compound and APIs mixed suspension, ig; the dose of liensinine was 8 mg/case. HPLC was used to determine the plasma concentration at the time point of before and 5 min and 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 24 h after administration; and the pharmacokinetic parameters were calculated by DAS2.0. The cumulative solubility and pharmacokinetic parameters were compared. RESULTS: The cumulative solubility of liensinine solid dispersion, inclusion compound and APIs were respectively 88.02%, 73.06% and 18.60% at the time point of 45 min. The pharmacokinetic parameters were respectively  $t_{1/2\alpha}$  as (0.230±0.060), (0.293±0.091) and (0.365±0.092) h,  $c_{\max}$  as (28.750±0.832), (26.330±0.582) and (22.772±1.691) μg/ml,  $t_{\max}$  as (0.433±0.067), (0.590±0.108) and (1.361±0.133) h and  $AUC_{0-24 h}$  as (606.701±34.512), (489.800±29.181) and (343.900±16.311) μg·ml/h. The pharmacokinetic characteristics were in line with the two-compartment model and the  $c_{\max}$  and  $AUC_{0-24 h}$  of solid dispersion were higher than inclusion compound ( $P<0.05$ ). CONCLUSIONS: Compared with APIs, the solid dispersion and inclusion compound of liensinine can improve the cumulative solubility and rats' bioavailability *in vivo*. Solid dispersion is faster than inclusion compound in aspect of absorption rate.

**KEYWORDS** Liensinine; Solid dispersion; Inclusion compound; Solubility *in vitro*; Plasma concentration; Pharmacokinetic

*tical Sciences Review and Research*, 2013, 20(2):51.

[14] 贺俊杰, 陈彦, 杜萌, 等. 多指标评价微乳提取灵芝有效组

Δ 基金项目: 国家中医药管理局“中药药剂学”重点学科项目(No. 国中医药发[2009]30号); 湖南省“中药学”重点学科建设项目资助(No. 湘教通[2011]76号); 湖南省科学技术厅科技计划一般项目(No. 2013SK3100); 湖南省高校创新平台开放基金项目(No. 13K078)

\* 硕士研究生。研究方向: 中药新剂型与新技术。电话: 0731-88458231。E-mail: 232319194@qq.com

# 通信作者: 教授, 硕士生导师。研究方向: 中药新剂型与新技术。电话: 0731-88458231。E-mail: guihui1993@126.com

分的实验研究[J]. 中成药, 2013, 35(3):479.

[15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 80, 282.

[16] 杨正坤, 王秀丽, 龙施华, 等. 考马斯亮蓝染色法测定大豆茎叶中蛋白质的含量[J]. 湖北农业科学, 2012, 51(20): 4610.

[17] 姚静, 顾晓天, 周建平, 等. 脂溶性药物在O/W型微乳中的分配行为[J]. 药学学报, 2007, 42(7): 768.

(收稿日期: 2014-08-28 修回日期: 2014-12-05)

(编辑: 刘萍)

莲心碱是莲子心中含量较高的一种双苄基异喹啉类生物碱,具有多种生理活性,如降压、抗心律失常<sup>[1]</sup>、抗血栓形成、清除自由基、抗氧化、降低血清中总胆固醇等<sup>[2-4]</sup>,具有良好的开发应用前景。但由于莲心碱在水中溶解度差,口服生物利用度较低,限制了其在临床上的应用。固体分散技术是将药物以分子、微晶或无定型等状态高度分散在固体载体材料中<sup>[5]</sup>;包合技术是将药物分子包嵌于另一种分子的空穴结构内,形成包合物<sup>[6]</sup>。两者均能提高难溶性药物的溶解度。笔者前期实验研究结果发现,固体分散技术及包合技术均能增加莲心碱的溶解度<sup>[7]</sup>。因此,本文以莲心碱的体外溶出度和在大鼠体内的药动学参数为评价指标,对莲心碱固体分散体和包合物进行比较,为莲心碱相关制剂的研发及临床应用提供参考,为固体分散技术和包合技术用于增加难溶性药物的体外溶出度和生物利用度提供实验依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

ZRS-8G型溶出仪(天津大学无线电厂);756PC型紫外分光光度计(上海奥普勒有限公司);DF-101S型集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限责任公司);CP-114型电子分析天平(上海奥豪斯仪器有限公司);Agilent HP 1200型高效液相色谱仪(美国Agilent公司);TGL 16GT型台式离心机(上海医用分析仪器厂);BF-2000型氮吹仪(北京八方世纪科技有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

莲心碱原料药(长沙华康生物技术开发有限公司,批号:HK-130121,纯度:50%);莲心碱对照品(上海源叶生物有限公司,批号:20121122,纯度:≥98%);聚乙烯吡咯烷酮-K30(PVP-K30,国药集团化学试剂有限公司);羟丙基-β-环糊精(HP-β-CD,上海源叶生物科技有限公司);十二烷基磺酸钠(重庆川东化工有限公司);其余化学试剂均为分析纯,水为去离子水。

### 1.3 动物

健康SD大鼠,♀♂各半,体质量220~250g,由正大天晴试验动物中心提供,使用合格证号为SCXK(湘)2009-0012。

## 2 方法与结果

### 2.1 莲心碱PVP-K30固体分散体的制备<sup>[7]</sup>

取莲心碱1g、PVP-K301g,各加15ml甲醇溶解,超声处理10min,混合,40℃下磁力搅拌30min,减压蒸馏除去多余的甲醇,将固体物质放入40℃真空箱中干燥,研细后过80目筛。

### 2.2 莲心碱HP-β-CD包合物的制备

以HP-β-CD为包合材料,采用饱和水溶液法制备包合物。精密称取HP-β-CD2g(1.298mmol)溶于30ml的蒸馏水中;另取莲心碱1g,以20ml甲醇溶解,超声处理10min。两者混合,50℃下磁力搅拌4h,将包合物置于50℃的水浴锅上挥发多余的溶剂及水分,40℃真空干燥,过80目筛。

### 2.3 溶出度测定<sup>[8]</sup>

按照2010年版《中国药典》附录中浆法规定对莲心碱固体分散体、莲心碱包合物、莲心碱原料药进行测定,转速为50r/min,溶出介质为pH为6.8的磷酸盐缓冲液1L,溶出介质温度为(37±0.5)℃。分别称取莲心碱固体分散体、莲心碱包合物、莲心碱原料药8mg,当药物粉末接触溶出介质时开始计时。分别在0、3、8、10、20、30、45min时取样7ml(同时立即补

加等量等温的溶出介质),置于10ml量瓶中,于282nm下测定吸光度,代入线性回归方程<sup>[9]</sup> $y=13.09x+0.0183(r=0.9994)$ ,计算累积溶出度,并绘制累积溶出度-时间曲线,见图1。

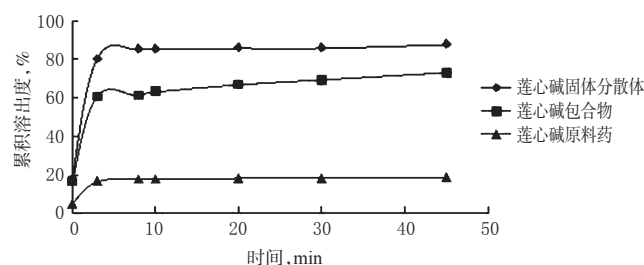


图1 3种样品的体外溶出曲线

Fig 1 Solubility *in vitro* curves of 3 kinds of samples

由图1可知,莲心碱固体分散体、莲心碱包合物、莲心碱原料药的累积溶出度在45min时分别为88.02%、73.06%、18.66%,莲心碱固体分散体及包合物的累积溶出度明显高于莲心碱原料药( $P<0.01$ );莲心碱固体分散体的累积溶出度高于莲心碱包合物( $P<0.05$ )。

### 2.4 高效液相色谱法测定莲心碱的血药浓度

2.4.1 莲心碱标准溶液的制备<sup>[10]</sup> 精密称取莲心碱对照品5.0mg,置于50ml量瓶中,加入0.5mol/L的盐酸溶液适量,溶解,用0.25mol/L氢氧化钠溶液调pH到6.0左右,加pH6的稀盐酸稀释至刻度,得0.1mg/ml的莲心碱标准溶液。

2.4.2 色谱条件 色谱柱:Hypersil C<sub>18</sub>(150mm×4.6mm,5μm);流动相:乙腈-十二烷基硫酸钠(0.015mol/L)-冰醋酸(56:43:1),流速:1.0ml/min;柱温:30℃;检测波长:282nm;进样量:20μl。

2.4.3 方法专属性考察 精密吸取大鼠空白血浆0.5ml,置于含有肝素钠的离心管中,加入甲醇2ml、氨-氯化铵缓冲液(pH=10)1ml,混匀,离心,移取上层澄清液置于10ml的EP管中。剩余的下层溶液,继续加入甲醇1ml,混匀,离心。取上层澄清液,合并,氮气吹干,残渣用400μl的甲醇定容,过0.45μm微孔滤膜,按“2.4.2”项下色谱条件进样20μl。

2.4.4 标准曲线的绘制 精密吸取空白大鼠的血浆0.5ml,加入莲心碱标准溶液,分别制备成莲心碱质量浓度为0.25、1、1.5、2、2.5、3、3.5μg/ml的系列血浆样品,按“2.4.3”项下方法处理并进样测定。以莲心碱的血药浓度(x)为横坐标、莲心碱的色谱峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得线性回归方程: $y=88461x-12.256(r=0.9994)$ 。结果表明,血浆中莲心碱检测质量浓度的线性范围为25~350μg/ml。

2.4.5 回收率与精密度试验 取“2.4.4”项方法下制备的低、中、高(1、2、3.5μg/ml)质量浓度的莲心碱样品溶液,按照“2.4.3”方法进行处理并进样测定。单日内连续测定3次,连续测定3d,计算方法回收率、提取回收率、日间及日内精密度,结果见表1。

表1 回收率与精密度试验结果

Tab 1 Results of recovery and precision test

加入量, μg/ml	方法回收率,%		提取回收率,%		精密度RSD,%	
	平均值	RSD	平均值	RSD	日内	日间
1	98.73	0.37	66.33	0.35	0.35	0.37
2	100.05	0.52	70.12	0.39	0.64	0.52
3.5	99.72	0.36	69.75	0.64	0.39	0.36

### 2.5 药动学实验

取大鼠12只,♀♂各半,购买后适应性饲养7d,实验前禁食12h,期间自行饮水。将大鼠随机分为3组,每组4只,分别ig给予莲心碱固体分散体、莲心碱包合物、莲心碱原料药混悬液,莲心碱的给药量均为每只8mg。于给药5min和0.25、0.5、1、1.5、2、3、4、6、8、10、24h经大鼠眼眶后静脉丛采血,每次0.5ml,置于肝素化采血管中,以离心半径3cm、3000r/min离心2min,取血浆置于-20℃冰箱中冷藏,待用。采用高效液相色谱法测定血浆中莲心碱含量;用DAS 2.0软件拟合模型,计算莲心碱在大鼠体内的药动学参数。3种样品在大鼠体内的药-时曲线见图2,药动学参数见表2。

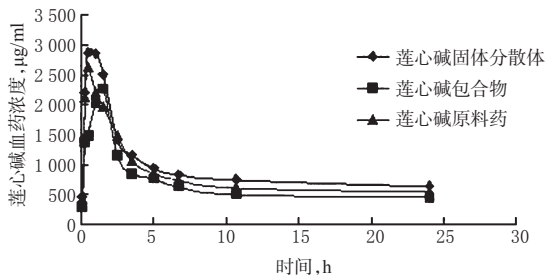


图2 3种样品在大鼠体内的药-时曲线

Fig 2 Drug-time curves of rats *in vivo* of 3 kinds of samples

表2 3种样品在大鼠体内的药动学参数( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Tab 2 Pharmacokinetic parameters of rats *in vivo* of 3 kinds of samples( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

样品	AUC <sub>0-24h</sub> , $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$	$c_{\text{max}}$ , $\mu\text{g}/\text{ml}$	$t_{1/2\alpha}$ , h	$t_{1/2\beta}$ , h	$t_{1/2\alpha}$ , h	$t_{\text{max}}$ , h
莲心碱固体分散体	606.701 ± 34.512***	28.750 ± 0.832***	0.230 ± 0.060	40.860 ± 5.924*	0.761 ± 0.042***	0.433 ± 0.067***
莲心碱包合物	489.800 ± 29.181**	26.330 ± 0.582**	0.293 ± 0.091	36.518 ± 5.311*	0.511 ± 0.024*	0.590 ± 0.108*
莲心碱原料药	343.900 ± 16.311	22.772 ± 1.691	0.365 ± 0.092	28.911 ± 3.194	0.590 ± 0.033	1.361 ± 0.133

注:与莲心碱原料药比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与莲心碱包合物比较,# $P<0.05$

Note: vs. liensinine APIs, \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ ; vs. liensinine inclusion compound, # $P<0.05$

由图2和表2可知,大鼠给予莲心碱固体分散体、包合物、原料药后其药动学特征均符合二室模型。与莲心碱原料药相比,莲心碱固体分散体及包合物的AUC<sub>0-24h</sub>及 $c_{\text{max}}$ 增加, $t_{\text{max}}$ 减小,差异具有统计学意义( $P<0.01$ 或 $P<0.05$ ),提示将莲心碱制成固体分散体及包合物均能提高莲心碱在大鼠体内的生物利用度。与莲心碱包合物相比,莲心碱固体分散体的 $t_{\text{max}}$ 减小, $c_{\text{max}}$ 、AUC<sub>0-24h</sub>均增加,差异具有统计学意义( $P<0.05$ ),提示莲心碱固体分散体在大鼠体内的吸收速度更快,生物利用度更高,固体分散技术对莲心碱的增溶作用更强。

### 2.6 生物利用度的计算

根据公式计算生物利用度( $F$ ), $F = \text{AUC}_i \cdot D_j / \text{AUC}_j \cdot D_i \times 100\%$ ,式中,AUC<sub>i</sub>为受试制剂的AUC, $D_i$ 为受试制剂的给药剂量,AUC<sub>j</sub>为参比制剂的AUC, $D_j$ 为参比制剂的给药剂量。本次实验给药剂量一致,故 $F$ 之比等于AUC之比,即 $\text{AUC}_{\text{固}} > \text{AUC}_{\text{包}} > \text{AUC}_{\text{原}}$ ,故 $F_{\text{固}} > F_{\text{包}} > F_{\text{原}}$ 。这表明莲心碱固体分散体及包合物的 $F$ 均高于原料药,且固体分散体的 $F$ 相对最高。

### 3 讨论

本课题在前期的实验研究中,采用扫描电镜法(SEM)、红外扫描法(IR)、差示量热扫描法(DSC)、X射线衍射法(X-ray)对莲心碱固体分散体及包合物的结构进行了鉴定。结果表明,莲心碱与PVP-K30及HP- $\beta$ -CD均形成了稳定的固体分散体及包合物<sup>[7]</sup>。在固体分散体中,莲心碱与载体材料PVP-K30形成了共沉淀物,由于PVP的抑晶作用,莲心碱是以非晶状态存在的,故溶出速度加快,溶解度增大,生物利用度也随之提高。HP- $\beta$ -CD具有截锥体的镂空结构,水溶性强,莲心碱分子部分进入HP- $\beta$ -CD的空腔结构内,故溶出度提高。

PVP-K30是一种合成水溶性高分子化合物,因毒性低、生理相容性好、溶解性能优良而被广泛用于制药行业。其能与难溶性药物形成共沉淀物,使其以无定形状态存在于载体材料中,且PVP分子中既有极性较大的内酰胺基,又有非极性的亚甲基,具有表面活性剂的结构,使难溶性药物易于润湿,从而提高其累积溶出度。HP- $\beta$ -CD能将莲心碱包藏在其空腔结构中而增大莲心碱的溶出度,但作用不及固体分散体,究其原

因,可能是莲心碱分子进入HP- $\beta$ -CD的空腔内,相互之间通过氢键、范德华引力等作用发生了缔合,从而影响其在体外的溶出及体内的吸收。

对莲心碱固体分散体和包合物进行体外溶出度及生物利用度的初步研究表明,固体分散体对莲心碱的增溶作用优于包合物,固体分散体能显著提高莲心碱的溶解性能,并提高其在大鼠体内的生物利用度。本课题组将进一步对莲心碱固体分散体的毒副作用进行考察,以为莲心碱相关制剂的研发及临床应用提供参考。

### 参考文献

- [1] 许磊,姚崇舜,陈济明.莲心碱的研究概况[J].中草药,2000,31(12):956.
- [2] 余万桂,邓德明,陈庭煊,等.莲心碱对大鼠脑缺血/再灌注后TNF- $\alpha$ 表达的影响[J].中药药理与临床,2009,25(1):16.
- [3] 王辉,刘刚,罗顺德.莲心碱对血小板聚集、凝血功能和血栓形成的影响[J].中国药理学通报,2010,26(6):768.
- [4] 王辉,刘刚,杨柳,等.莲心碱的体外抗氧化作用[J].中国中药杂志,2005,30(14):1132.
- [5] 陈周全,张宁.固体分散体技术在中药制剂中的应用概况[J].中国药房,2012,23(15):1427.
- [6] 李海浪,高乾宏,吴国忠,等.叶酸羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物的制备与表征[J].医学研究杂志,2013,42(8):98.
- [7] 唐婷,周江,吴婷婷,等.莲心碱固体分散体的制备工艺研究[J].湖南中医药大学学报,2014,34(4):13.
- [8] 黄兰芷,赵志强,衡林森,等.青蒿琥酯缓释固体分散体的制备及体外溶出度研究[J].中成药,2010,32(10):1702.
- [9] 唐婷,吴婷婷,周江,等.莲心碱-PVP-K30固体分散体稳定性研究[J].时珍国医国药,2014,25(12):2907.
- [10] 孙春艳.莲心碱冻干粉针药理学及药动-药效模型研究[D].武汉:武汉大学,2005.

(收稿日期:2014-11-17 修回日期:2014-12-30)

(编辑:邹丽娟)